云 南 植 物 研 究 2003，25（5）：620～624
Acta Botanica Yunnanica

美丽金丝桃中的一个新桥环化合物*

罗 蕾[1] 李祖强[2]**，马国义[3]

（1 云南师范大学化学化工学院；云南 昆明 650092；2 云南大学实验中心，云南 昆明 650091；
3 悉尼大学药学系，澳大利亚）

摘要：采用 L_{1210} 细胞株对美丽金丝桃（*Hypericum bellum* Li）的粗提物及其分步萃取物进行了细胞毒试验，结果表明，美丽金丝桃的氯仿及乙酸乙酯萃取物具有细胞毒活性，其 IC_{50} 分别为 5.4 和 6.0 μg/ml。在细胞毒试验结果指导下，同步对美丽金丝桃有效部位进行了化学成分分离。首次从该植物中得到 3 个化合物，通过理化数据测定及波谱数据分析，分别鉴定为 4，4－二甲基－7α，8β－二羟基－3，5－二氧代二环［4.3.1］癸－1（10）－烯－2－酮（**1**），槲皮素（quercetin，**2**）及木犀草素（luteolin，**3**）。其中，**1** 为一新桥环化合物，并通过 2D NMR 分析，对黄酮类化合物 **2** 及 **3** 的 ^{13}C NMR 谱中的 C5 和 C9 数据指认进行了修正。

关键词：美丽金丝桃；金丝桃科；细胞毒性；桥环化合物；4，4－二甲基－7α，8β－二羟基－3，5－二氧代二环［4.3.1］癸－1（10）－烯－2－酮

中图分类号：Q 946 **文献标识码**：A **文章编号**：0253－2700(2003)05－0620－05

A New Bridged Ring Compound from *Hypericum bellum**

LUO Lei[1]，LI Zu-Qiang[2]**，MA Guo-Yi[3]

（1 *Chemical & Engineering College of Yunnan Normal University*，Kunming 650092，China；
2 *Experimental Center of Yunnan University*，Kunming 650091，China；
3 *Faculty of Pharmacy*，*University of Sydney*，NSW，Australia）

Abstract：Cytotoxicity screening（L_{1210}）of extracts of *Hypericum bellum* was carried out. In the result，$CHCl_3$ and EtOAc fractions possess cytotoxic activities with IC_{50} 5.4 and 6.0 μg/ml respectively. A new compound，4，4-dimethyl-7α，8β-dihydroxy-3，5-dioxobicyclo［4.3.1］dec-1（10）-en-2-one（**1**），together with quercetin（**2**）and luteolin（**3**），was isolated from the active fractions of *H. bellum*. Their structures were identified by spectral data analysis. All the compounds are reported in this genus for the first time. The ^{13}C NMR assignments for the C5 and C9 of the two known compounds **2** and **3** were revised by means of 2D NMR experiments.

Key words：*Hypericum bellum*；Hypericaceae；Cytotoxicity；Bridged ring compound；4，4-dimethyl-7α，8β-dihydroxy-3，5-dioxobicyclo［4.3.1］dec-1（10）-en-2-one

---

* **基金项目**：云南省应用科学基金（1999B004M）和云南省国际合作项目（GH200121）

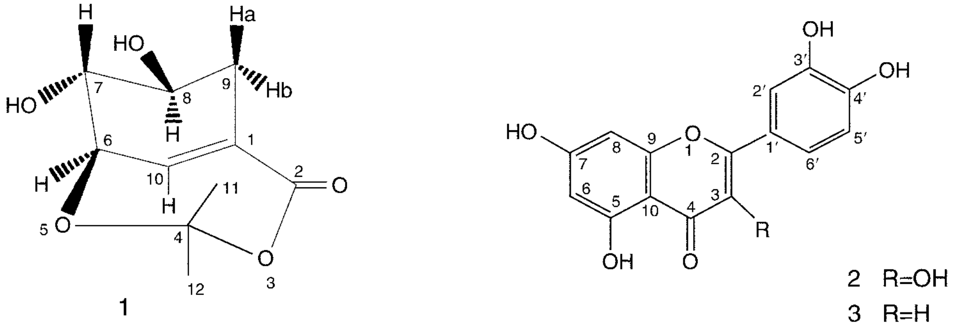
** **通讯作者** Tel：（0871）5033216 E－mail：Zuqiang Li@yun. edu. cn

收稿日期：2003－04－29，2003－06－20 **接受发表**

作者简介：罗蕾（1961－）女，副教授，主要从事抗癌活性天然产物研究。

美丽金丝桃（*Hypericum bellum* Li）是金丝桃科金丝桃属植物（中国科学院昆明植物研究所，1984），分布于云南贡山、独龙、丽江等地，生长在海拔 1 800 ~ 2 400 m 的地方，民间用于消炎解毒，治疗乙肝。关于美丽金丝桃植物的化学成分，至今未见报道。本文的化学成分研究是在细胞毒活性筛选结果指导下，同步进行的；用小鼠白血病癌细胞株 L_{1210} 对采自丽江的美丽金丝桃全株分离纯化过程中的粗提物及石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇的分步萃取组分，进行了体外试验。结果表明，该植物的 95% 乙醇粗提物及氯仿、乙酸乙酯组分具有细胞毒活性，其 IC_{50} 分别为 8.1、5.4 和 6.0 μg/ml。

对有活性的氯仿和乙酸乙酯组分进行分离纯化，得到 6 个单体。通过理化数据测定及波谱分析（MS、IR、1D NMR、2D NMR），鉴定其中的 3 种化合物的结构分别是：4，4－二甲基－7α，8β－二羟基－3，5－二氧代二环［4.3.1］癸－1（10）－烯－2－酮（**1**），槲皮素（quercetin，**2**）及木犀草素（luteolin，**3**）。其中，**1** 为一新桥环化合物。通过 2D NMR 分析，对黄酮类化合物 **2** 及 **3** 的 ^{13}C NMR 谱中的 C5 和 C9 数据指认进行了修正。



1

2　R=OH
3　R=H

图 1　化合物 **1** ~ **3** 的结构

Fig. 1　Structures of compounds **1** – **3**

1　结果与讨论

1.1　细胞毒活性

选择 L_{1210} 细胞系，采用染料排斥试验法，测定了美丽金丝桃 95% 乙醇粗提物（HB0）及石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇的分步萃取物（HB1、HB2、HB3、HB4、HB5）的细胞毒活性。结果表明，粗提物（HB0）及其氯仿、乙酸乙酯萃取物（HB2、HB3）具有细胞毒活性，其 IC_{50} 分别为 8.1、5.4 和 6.0 μg/ml（表 1）。

表 1　样品对培养的 L_{1210} 癌细胞系生长抑制率

Table 1　Growth inhibitory index of samples in cultured L_{1210} cell

样品 Samples		生长抑制率 Growth inhibitory index/%					
		HB0	HB1	HB2	HB3	HB4	HB5
剂量 Dose/μg·ml^{-1}	1	10	5	20	16	10	7
	10	68	29	81	74	30	21
	100	94	68	100	94	65	39
	IC_{50}	8.1		5.4	6.0		

1.2 结构鉴定

化合物1，无色鳞片状晶体。由MS**及**^{1}H NMR、^{13}C NMR**推出其分子式为**$C_{10}H_{14}O_5$，**不饱和度为**4。IR**谱示有羟基信号（**3379**及**3338 cm^{-1}**）、羰基信号（**1700 cm^{-1}**）及碳碳双键信号（**1644 cm^{-1}**）。**^{13}C NMR**及**DEPT**谱示有**2**个烯碳（**δ 130.69，δ 135.20**）及**1**个酯羰基（**δ 167.99**），占去**2**个不饱和度，分子中应有**2**个环；此外，还有**1**个连氧的季碳、**3**个连氧的次甲基、**1**个亚甲基和**2**个甲基。由于**^{13}C NMR**中，酯羰基碳**δ**值偏向高场，而烯碳**δ**值偏向低场，示有共轭态势，结合**IR**，推断化合物1为双环共轭烯内酯。季烯碳（**δ 130.69**）比叔烯碳（**δ 135.20**）处于较高场，所以在此共轭体系中，与酯羰基相连的是季碳，为桥头原子（**C1**）。由**^{1}H NMR、^{13}C NMR**及**HMBC**谱证实，有一个缩丙酮（**-O-CMe$_2$-O-**）的结构片段存在，其中一个氧原子即为内酯氧，构成七元环（**A**环），推断1为**4，4－**二甲基**－3，5－**二氧代二环［**4.3.1**］癸烯酮类化合物，在六元环（**B**环）中，应有**2**个带羟基的次甲基及**1**个亚甲基。由于**^{1}H NMR**谱中无氢键缔合的低场羟基信号，羟基不在**C9**位；同时，**^{1}H NMR、HMBC**及**^{1}H－^{1}H COSY**谱示亚甲基中的**Ha**与**Hb**形成两组**12**重峰（**ddt**），亚甲基的左右邻位是季碳及带羟基的次甲基，也表明**2**个羟基分别连在**C7**及**C8**位，亚甲基在**C9**位。至于**C7**及**C8**的构型，从**^{1}H NMR**谱可知，**C7－H**由于受邻位**C6－H、C8－H**的偶合作用，裂分为三重峰（**J＝6.2 Hz**），说明**C7－H**与**C6－H**或**C7－H**与**C8－H**属**aa**型（由于环上有**C＝C**，此六元环可能不是典型的椅式构象，**J**值小于**8 Hz**，但也远大于**3 Hz**）（陈洁和宋启泽，**1997**），因此推断**C7、C8**位的**2**个羟基分别为**α**和**β**型。结合**MS**碎片、**IR**及**NMR**的分析、验证，将化合物1的结构推定为**4，4－**二甲基**－7α，8β－**二羟基**－3，5－**二氧代二环［**4.3.1**］癸**－1（10）－**烯**－2－**酮，是一个新桥环化合物。对其**^{1}H NMR、^{13}C NMR**及**^{1}H－^{1}H（COSY**谱）及**^{1}H－^{13}C（HMQC）、^{1}H－^{13}C**远程（**HMBC**）等相关谱图进行详细解析和指认，列于表**2**。因片晶粒度太小，暂时无法进行**X－**衍射试验。**

表2 化合物1的NMR谱数据（in CD_3COCD_3，500 MHz for δ_H，125 MHz for δ_C，J in Hz）

Table 2 NMR data of compound **1** (in CD_3COCD_3，500 MHz for δ_H，125 MHz for δ_C，J in Hz)

C	^{13}C NMR	DEPT	^{1}H NMR	^{1}H－^{1}H COSY	HMBC (selected)
1	130.69	C			H－6，8
2	167.99	C			H－9，10
4	109.64	C			H－6
6	72.98	CH	4.73 tt (4.8，1.3)	7，10	H－8
7	77.91	CH	4.13 t (6.2)	6，8	H－9，10
8	68.15	CH	3.94 td (6.3，4.4)	9a，9b，7	H－6
9	29.40	CH_2	2.27 ddt (17.4，6.4，1.5)，Ha	9b，8，10	H－7，10
			2.54 ddt (17.4，4.4，1.5)，Hb	9a，8，10	
10	135.20	CH	6.78 dt (3.4，1.7)	6，9a，9b	H－7
11	26.17	CH_3	1.32 s		
12	28.29	CH_3	1.31 s		

化合物2，黄色针晶（丙酮）。结合MS、^{1}H NMR**及**^{13}C NMR、DEPT**数据得分子式**$C_{15}H_{10}O_7$。**其**1D NMR（^{1}H、^{13}C**及**DEPT）**数据与文献（龚运淮，**1986；**张晓瑢等，**1999）**中**

的槲皮素一致。文献（何红平等，2001）指出此类化合物（A环为5，7－二羟基取代黄酮类）的C6与C8位归属应交换指认。文献（龚运淮，1986；何红平等，2001）将δ162左右的数据归属为此类化合物的C9位数据。而我们的$^1H-^{13}C$远程相关（HMBC谱）则显示，与C5－OH质子（有氢键缔合作用的低场质子）相关的是C6、C10及δ162.00的C。通过对化合物**2**的$^1H-^1H$相关（COSY谱）及$^1H-^{13}C$相关（HMQC及HMBC谱）的分析，我们认为δ162.00应归属为C5，而被上述文献指认为C5的δ157.77则应归属为C9的数据，即C5与C9位归属应交换指认。在此基础上，C6与C8位归属则符合文献（龚运淮，1986）指认。化合物**2**的NMR数据列于表3。

化合物**3**，黄色针晶（乙醇）。结合MS、^1H NMR及^{13}C NMR、DEPT数据得分子式$C_{15}H_{10}O_6$。其^{13}C NMR数据与文献（龚运淮，1986）中报道的木犀草素对照一致。同化合物**2**，通过对1D、2D NMR的分析，C5与C9位归属应交换指认。此外，**3**的DEPT及2D NMR显示，^{13}C NMR谱中的δ122.88（季C）应归属为C1’，δ119.25（叔C）应归属为C6’。文献（龚运淮，1986）中C1’与C6’位归属应交换指认。化合物**3**的NMR数据列于表3。

表3　化合物**2**和**3**的NMR谱数据（in CD_3COCD_3，500 MHz for δ_H，125 MHz for δ_C，J in Hz）

Table 3　NMR data of compounds **2**和**3**（in CD_3COCD_3，500 MHz for δ_H，125 MHz for δ_C，J in Hz）

C	**2**					**3**				
	^{13}C	DEPT	^1H	$^1H-^1H$ COSY	$^1H-^{13}C$ HMBC	^{13}C	DEPT	^1H	$^1H-^1H$ COSY	$^1H-^{13}C$ HMBC
2	147.05	C				164.11	C			
3	136.70	C				103.33	CH	6.58 s		10,2,4,1’
4	176.55	C				182.21	C			
5	162.00	C	12.20 s (OH)		5,6,10	162.49	C	13.01 s (OH)		5,10,6
6	98.11	CH	6.29 d (2.0)	8	10,8,5,7	98.87	CH	6.24 d (2.1)	8	10,8,5,7
7	165.11	C				164.30	C			
8	94.47	CH	6.54 d (1.9)	6	10,6,9,7	93.85	CH	6.51 d (2.0)	6	9,10,6,7
9	157.77	C				157.93	C			
10	104.03	C				104.45	C			
1’	123.69	C				122.88	C			
2’	115.67	CH	7.83 d (2.0)	6’	6’,4’,3’,2	113.23	CH	7.49 d (2.2)	6’	6’,3’,1’
3’	145.87	C				145.67	C			
4’	148.34	C				149.28	C			
5’	116.13	CH	7.02 d (8.5)	6’	3’,1’,4’	115.75	CH	6.99 d (8.4)	6’	1’,3’,4’,2’,2
6’	121.46	CH	7.71 dd (8.5,2.2)	5’,2’	4’,5’,2’,2	119.25	CH	7.46 dd (8.3,2.2)	5’,2’	4’,2’,2,1’,5’

2　实验部分

2.1　仪器和材料

熔点用北京产X－6型显微熔点测定仪测定，温度未校正。IR用美国BIO－RAD公司FTS－40型测定，KBr压片。^{1}HNMR、^{13}CNMR、DEPT及2DNMR用Brucker公司Avance DRX－500型测定，TMS为内标。MS用英国VG公司Outspect－3000型测定。柱层析用200～300目硅胶（青岛海洋化工厂生产）及60H硅胶（德国Merck公司生产），TLC用德国Merck公司silica gel 60 F254。

材料采自云南丽江，由云南大学胡志浩教授鉴定为美丽金丝桃（*Hypericum bellum* Li）。

2.2　细胞毒活性试验

选择 L_{1210} 细胞系，用染料排斥试验法对美丽金丝桃 95%乙醇提取物（HB0）及其石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇分步萃取物（HB1、HB2、HB3、HB4、HB5）进行细胞毒性筛选试验。细胞毒试验在悉尼大学癌症医学系药理室实施。部分实验结果列于表 1。

2.3 分离提取及波谱数据

取美丽金丝桃全株干样 4 kg，用 95%乙醇浸泡 30 d，提取浸膏 HB0（280 g）。取浸膏 280 g 与等重化学纯硅藻土加 95%乙醇混合均匀，于水浴上炒干，称重，$W_{样} = 260$ g。用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮及甲醇，在索氏提取器中分步萃取，得组分 HB1、HB2、HB3、HB4 及 HB5。

合并活性组分 HB2 和 HB3（W = 50 g），用国产硅胶（200 ~ 300 目）及细硅胶（40 ~ 60 μg）为吸附剂，进行柱层析，石油醚 – 乙酸乙酯 – 甲醇系统，按梯度洗脱。未纯化的组分再用 60H 硅胶（Merck 公司）层析分离，纯化得 6 个单体化合物 **1 ~ 6**。

化合物 **1**（30 mg），分子式 $C_{10}H_{14}O_5$，无色鳞片状晶体（丙酮），mp 175 ~ 177℃。EIMS *m/z*（%）：214（M，1），213（M – H，2），199（M – CH_3，100），185（213 – CO，1），181（199 – H_2O，4），139［199 – A（逆 Diels-Alder 反应碎片），70］，121（139 – H_2O，16），111（139 – CO，11），110（139 – C_2H_5，10），95（110 – CH_3，50），93（111 – H_2O，10），59（A – H，18）。IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}：3379 及 3338（O – H），1700（C = O）。NMR 谱数据见表 2。

化合物 **2**（100 mg），分子式 $C_{15}H_{10}O_7$，黄色针晶（丙酮），mp 310 ~ 315℃（分解）。EIMS *m/z*（%）：302（M^+，16），301（100），153（11），137（16）。NMR 谱数据见表 3。

化合物 **3**（15 mg），分子式 $C_{15}H_{10}O_6$，黄色针晶（乙醇），mp 327 ~ 330℃（分解）。EIMS *m/z*（%）：286（M^+，46），285（100）。NMR 谱数据见表 3。

〔参 考 文 献〕

中国科学院昆明植物研究所，1984．云南种子植物名录（上册）［M］．昆明：云南人民出版社，394

陈洁，宋启泽，1997．有机波谱分析［M］．北京：北京理工大学出版社，110

龚运淮，1986．天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移［M］．昆明：云南科技出版社，164—167

He HP（何红平），Zhu WM（朱伟明），Shen YM（沈月毛），*et al*，2001．Flavonoid glycosides from *Clausena excavata*［J］．*Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**23**（2）：256—260

Zhang XR（张晓瑢），Peng SL（彭树林），Wang MK（王明奎），*et al*，1999．Studies on the constituents of *Lysimachia congestiflora*［J］．*Acta Pharm Sin*（药学学报），**34**（11）：835—838

第 25 卷 第 5 期

Vol. 25 No. 5